ТЕСТЫ ДЛЯ РАКА ЛЕГКОГО

на основе секвенирования нового поколения

NGS

ГЕНОМЕД

Медико-генетический центр

Основными морфологическими типами рака легкого являются:

немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ)

- плоскоклеточный рак (40% больных)
- аденокарцинома (40–50% больных)
- крупноклеточный рак (5–10% больных)

мелкоклеточный рак легкого (МРЛ)

- (15-20% больных)

Таргетная терапия является основой лечения пациентов с НМРЛ. Интенсивное исследование точных молекулярных механизмов рака легких выявило возможность не только избирательно влиять на патологический молекулярный каскад в опухолевой клетке при помощи таргетных препаратов, но также определять эффективность/побочные эффекты классической химиотерапии и давать прогноз развития заболевания и метастатического потенциала опухоли.

Возможность исследования свободноциркулирующей опухолевой ДНК (технология жидкостной биопсии) открывает новые горизонты в диагностике, мониторинге и лечении рака легкого.

Лаборатория «ГЕНОМЕД» представляет линейку тестов для рака легкого на основе технологии секвенирования нового поколения (NGS)

Почему секвенирование нового поколения (NGS) лучше диагностирует соматические мутации в материале опухоли (FFPE) и в плазме?

1 Позволяет анализировать от одной до нескольких тысяч мутаций в одном исследовании.

2 Заменяет несколько отдельных исследований, что снижает стоимость и время получения клинически важной информации.

3 В отличии от ПЦР, точно идентифицирует мутацию, а не только кодон, в котором произошла аминокислотная замена.

4 Позволяет определить частоту аллеля*.

5 Снижает стоимость определения мутации при использовании панели.

6 Возможность определения соотношение “шум”/ сигнал найденной мутации, что позволяет оценить ее достоверность.

7 Покрывает области генов, которые обычно не покрываются ПЦР и выявляет варианты не определяемые ПЦР.

8 Имеет высокую чувствительность, детекция мутантного аллеля при его содержании в образце ≥0.1%.

9 В отчетах содержится актуальная и обновляемая информация о клинических испытаниях, связанных с обнаруженными аномалиями, что упрощает терапевтические решения для врачей.

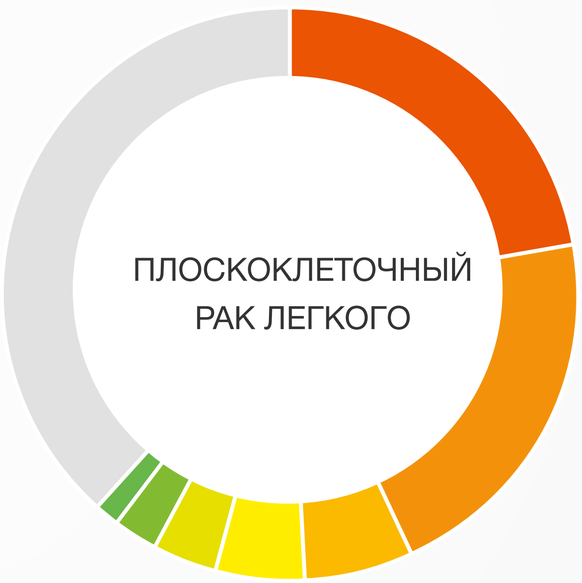
** Частота аллеля - отношение мутантного аллеля, к аллелю дикого типа*

Преимущества метода NGS по сравнению с другими методами для поиска соматических мутаций в опухоли

ХАРАКТЕРИСТИКА	NGS	ПЦР	СЕКВЕНИРОВАНИЕ ПО СЭНГЕРУ
Чувствительность (доля мутантного аллеля в образце)	**0.1%**	**1%**	**15-20%**
Возможность определения точных координат мутации	+	-	+
Возможность исследования ранее не описанных мутации	+	-	+
Возможность исследования соматических мутаций в плазме	+	+	-

Молекулярный ландшафт при немелкоклеточном раке легкого (НМРЛ)

- *KRAS* **25%**
- *EGFR* **15%**
- *ALK* **7%**
- *MET* **3%**
- *BRAF* **2-3%**
- *RET* **2%**
- *ROS1* **2%**
- *ERBB2* **2%**
- *PIK3CA* **1%**
- *NRAS* **0-5%**
- *MAP2K1* **0-5%**
- *NTRK* **0-5%**
- Неизвестно **31%**



- *PTEN* **18%**
- *GFR1* **17%**
- *EGFR* **5%**
- *DDR2* **4%**
- *FGFR2* **3%**
- *PDGFRA* **2-3%**
- *PIK3CA* **1%**
- Неизвестно **31%**

Клиническое значение исследуемых генов и возможности таргетной терапии

ГЕН	Таргетный препарат/ клиническое значение
EGFR	гефитиниб, эрлотиниб, афатиниб, осимертиниб, дакомитиниб
KRAS	высокая частота, плохой прогноз
ALK	кризотиниб, церитиниб, алектиниб, бригатиниб, лорлатиниб
BRAF	дабрафениб, траметиниб
ERBB2	трастузумаб
PIK3CA	резистентность к ИТК EGFR
MET	кризотиниб
ROS1	кризотиниб

ПРЕДСТАВЛЯЕМ

тесты для анализа мутаций связанных
с эффективностью таргетных препаратов

Тест на мутации в гене EGFR

1. Известен с 2004 года.
2. Рекомендован всем пациентам с неплоскоклеточным НМРЛ.
3. Пациентам с плоскоклеточным раком легкого, никогда не курящим, или с небольшим стажем курения.
4. Исследование методом NGS выявляет все возможные мутации 18-21 экзонов гена *EGFR,* в том числе и Exon 19 del, L858R, ассоциированные с наиболее эффективным ответом на терапию.
5. Чувствительность ≥0.5%.

Определяет эффективность лечения следующими таргетными препаратами:

гефитиниб, эрлотиниб, афатиниб, осимертиниб, дакомитиниб

МУТАЦИИ ОПРЕДЕЛЯЕМЫЕ ТЕСТОМ *EGFR*

Ген *EGFR*	Тирозинкиназный домен 18-21 экзон		
ЭКЗОН 18	**ЭКЗОН 19**	**ЭКЗОН 20**	**ЭКЗОН 21**
G719C	Все делеции 19 экзона	T790M	L858R
G719S	Del E746-A750	D770_N771insNPG	L861Q
G719A	Del E746_S752>v	D770_N771insSVQ	
E709A	Del E746_T751>A	D770-N771insG	
E709D	Del L747_A750>P	S768I	
E709G	Del L747_A750>P	L858M	
E709K	Del L747_P753>Q	L861R	
E709Q	Del L747_P753>S		
	Del L747_S752		

Тест на мутации в гене BRAF

1. Частота мутаций в гене *BRAF* при НМРЛ составляет 2-4%.

2. Мутации в гене *BRAF* чаще обнаруживаются у курильщиков.

3. Мутация *BRAF* V600E составляет около 50% всех мутаций *BRAF.* При раке легкого также встречаются и клинически значимые мутации в других положениях внутри киназного домена гена *BRAF.*

4. Мутации в гене *BRAF* чаще всего взаимоисключающие с мутациями в гене *EGFR,* транслокациями гена *ALK.*

5. Исследование выявляет все возможные мутации в 11 и 15 экзонах гена *BRAF,* в том числе наиболее частую мутацию V600E.

Определяет эффективность лечения следующими таргетными препаратами:

дабрафениб, траметиниб

МУТАЦИИ ОПРЕДЕЛЯЕМЫЕ ТЕСТОМ *BRAF*

Ген *BRAF*	Киназный домен
ЭКЗОН 11	**ЭКЗОН 15**
G466V	V600E
G469L	V600K
G469A	V600D
Y472C	V600R
	V600M
	V600G

Тест на мутации в гене KRAS

1. У 15-25% пациентов с аденокарциномой легкого обнаруживается мутация в гене *KRAS.*
2. Мутации в гене *KRAS* почти не встречаются при плоскоклеточном раке легкого.
3. В подавляющем большинстве случаев мутации гена *KRAS* встречаются в опухолях с диким типом гена *EGFR* или гена *ALK.*
4. Исследование мутаций в гене *KRAS* входит в рекомендации RUSSCO 2018 года.
5. Исследование выявляет все возможные мутации во 2-4 экзонах гена *KRAS.*

Определяет резистентность к химиотерапии и прогноз, а также устойчивость к лучевой терапии

МУТАЦИИ ОПРЕДЕЛЯЕМЫЕ ТЕСТОМ *KRAS*

Ген *KRAS*	G-domen	
ЭКЗОН 2	**ЭКЗОН 3**	**ЭКЗОН 4**
G12D	Q61H	K117N
G12C	Q61L	K117R
G12S	Q61R	K117E
G12A		A146T
G12V		A146P
		A146V

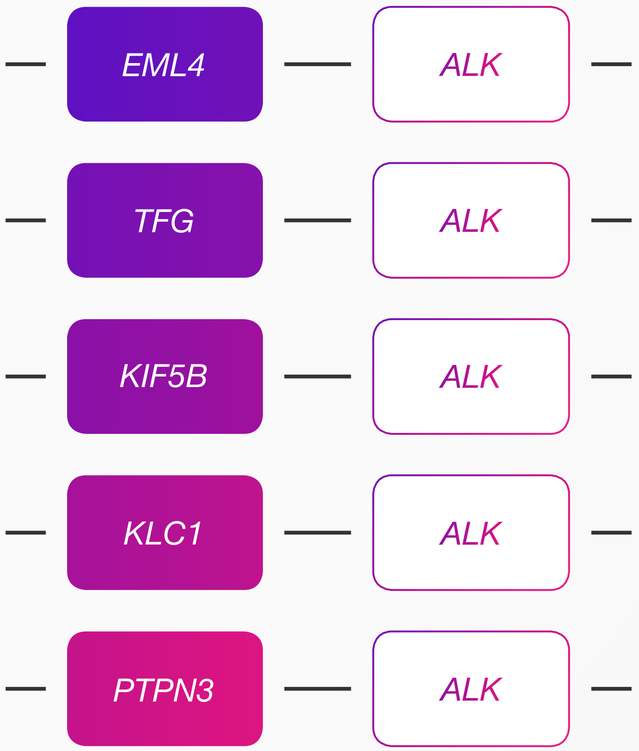
Тест на транслокации ALK

1 Транслокации с участием гена *ALK* встречается в 4% случаев НМРЛ.

2 Наиболее частая транслокация гена *ALK* представляет собой парацентрическую инверсию (внутрихромосомную перестройку) короткого плеча 2-й хромосомы, ведущую к образованию химерного онкогена *EML4/ALK.*

3 Транслокация *EML4/ALK* встречается в 95% случаев всех транслокаций *ALK* при раке легкого.

ФЬЮЖН ГЕНЫ, ДИАГНОСТИРУЕМЫЕ С ПОМОЩЬЮ FISH ИССЛЕДОВАНИЯ



Определяет эффективность лечения следующими таргетными препаратами:

кризотиниб, церитиниб, алектиниб, бригатиниб, лорлатиниб

Тест на транслокации ROS1

1 Транслокации с участием гена *ROS1* встречаются в 2% случаев немелкоклетоного рака легкого.

2 Тест на транслокации гена *ROS1* проводится пациентам только в случае отрицательного результата тестирования на транслокации гена *ALK.*

3 Чаще транслокация с участием гена *ROS1* обнаруживается при диком типе генов *EGFR, KRAS.*

ФЬЮЖН ГЕНЫ, ДИАГНОСТИРУЕМЫЕ С ПОМОЩЬЮ FISH ИССЛЕДОВАНИЯ

- *SLC34A2* — *ROS1*
- *CD74* — *ROS1*
- *EZR* — *ROS1*
- *TPM3* — *ROS1*
- *SDC4* — *ROS1*

Определяет эффективность лечения следующими таргетными препаратами:

кризотиниб

Панели генов

Панели генов позволяют определить наличие мутаций сразу в нескольких генах, что дает возможность сразу подобрать оптимальное лечение и делает исследование экономически эффективным.

Обнаруженные мутации могут быть объектом мониторинга развития заболевания или эффективности лечения (при использовании жидкостной биопсии).

Панель для рака легкого, базовая

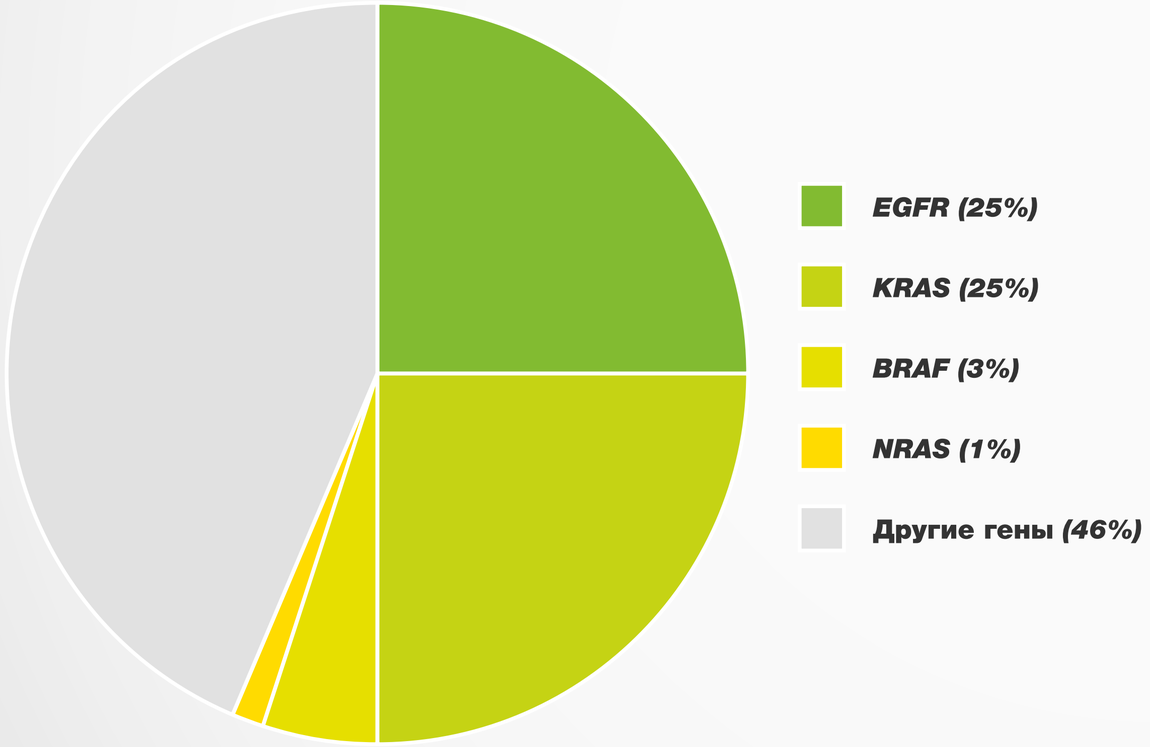
Анализ на мутации в генах:	*EGFR, BRAF, KRAS, NRAS** (*ALK, ROS1*)
Метод исследования:	**секвенирование ДНК нового поколения** (для *ALK, ROS1* метод FISH)
Чувствительность:	**детекция мутантного аллеля при его содержании в образце ≥ 0.5%** (для генов *EGFR, BRAF, KRAS*)

Базовая панель позволяет определить мутации в генах, имеющих наибольшую частоту клинически релеватнных мутаций, и подобрать лечение ингибиторами тирозинкиназ (EGFR, ALK, ROS1) и ингибиторами BRAF за короткое время и по приемлемой цене.

* Мутации в гене *NRAS* присутствуют в ~ 1% случаев НМРЛ. Мутации в гене *NRAS* часто являются взаимоисключающими с мутациями в гене *EGFR* и транслокациями *ALK*. В настоящее время нет одобренных таргетных препаратов для пациентов с мутацией в гене *NRAS*, однако ряд исследований in vitro продемонстрировал ответ на лечение ИТК EGFR, при одновременном обнаружении мутации в гене *EGFR* и гене *NRAS.*

Почему именно эти гены вошли в базовую панель?

ЧАСТОТА ВСТРАЧАЕМОСТИ МУТАЦИЙ В ГЕНАХ, ВХОДЯЩИХ В БАЗОВУЮ ПАНЕЛЬ



1 Стоимость исследования 4 генов методом NGS дешевле (в большинстве случаев) одного ПЦР теста определяющего мутации только в гене *EGFR.*

2 Обнаружение мутаций в генах *EGFR* и *BRAF* позволяет назначить таргетную терапию пациентам с раком легкого.

3 У пациентов с НМРЛ мутации в гене *KRAS* наблюдается с очень высокой частотой. (до 30%).

4 Мутации в генах *KRAS, NRAS* встречаются (в большинстве случаев) в опухолях с диким типом генов *EGFR, ALK, ROS1.*

5 Обнаружение мутации в генах *KRAS, NRAS* избавляет пациента от дальнейшего поиска транслокаций с участием генов *ALK, ROS1.*

Панель для рака легкого, расширенная

Анализ на мутации в генах:	*ALK, BRAF, EGFR, ERBB2, KRAS, MET, PIK3CA, ROS1* **и др. (всего 57 генов), транслокации в генах** *ALK*
Метод исследования:	**секвенирование ДНК нового поколения** (для транслокаций *ALK*, метод FISH)
Чувствительность:	**детекция мутантного аллеля при его содержании в образце ≥ 0.5%** (для мутаций)

Панель охватывает **более 16 000 мутаций,** аннотированных в базе данных COSMIC и **более 6 000 мутаций,** аннотированных в базе данных ClinVar.

Возможность диагностики амплификации гена ***ERBB2*** (*HER2*|*Neu*).

Покрытие всех экзонов гена ***TP53.***

Список генов входящих в расширенную панель:

ABL1,
AKT1,
ALK,
APC,
ATM,
BRAF,
CDH1,
CDKN2A,
CSF1R,
CTNNB1,
DDR2,
DNMT3A,
EGFR,
ERBB2,
ERBB4,
EZH2,
FBXW7,
FGFR1,
FGFR2,
FGFR3,
FLT3,
FOXL2,
GNA11,
GNAQ,
GNAS,
HNF1A,
HRAS,
IDH1,
IDH2,
JAK2,
JAK3,
KDR,
KIT,
KRAS,
MAP2K1,
MET,
MLH1,
MPL,
MSH6,
NOTCH1,
NPM1,
NRAS,
PDGFRA,
PIK3CA,
PTEN,
PTPN11,
RB1,
RET,
SMAD4,
SMARCB1,
SMO,
SRC,
STK11,
TP53,
TSC1,
TSC2,
VHL

Комплексное молекулярно-генетическое профилирование

1 Исследования с помощью панелей генов позволяют диагностировать различные типы мутаций: **миссенс мутации, небольшие делеции и вставки, амплификации.**

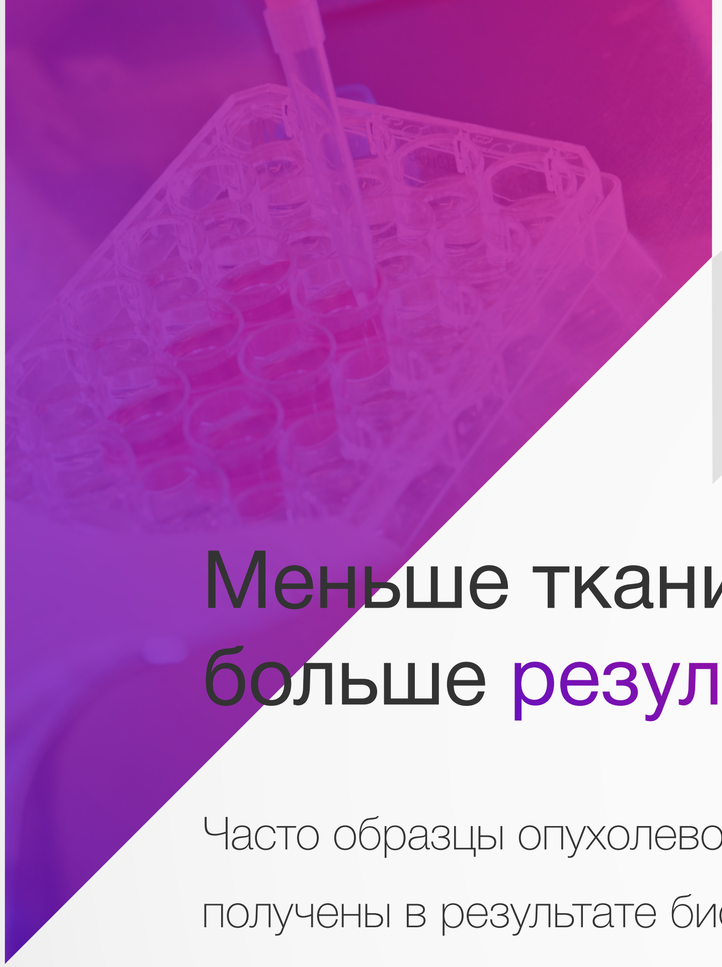
2 Исследование мутаций в генах, входящих в базовую и расширенную панель, включены в рекомендации **RUSSCO, NCCN, ESMO, ASCO.**

3 Быстрая диагностика: **выполнение исследования от 5 дней.**

Маркеры, составляющие стандарт диагностики, для подбора таргетной терапии

Маркеры, позволяющие принять участие в клинических испытаниях и назначить экспериментальную терапию

Дополнительные маркеры, рекомендованные для подбора таргетной терапии



Меньше ткани, больше результата

Часто образцы опухолевой ткани могут быть получены в результате биопсии и содержать небольшое количество опухолевых клеток.

ОБРАЗЦЫ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ:

Опухолевая ткань после операции в парафиновых блоках (FFPE).

Биопсийные образцы в парафиновых блоках.

Свежезамороженные биопсийные или опухолевые образцы.

Ранее выделенная опухолевая ДНК.

ТРЕБОВАНИЯ К ВХОДЯЩЕМУ МАТЕРИАЛУ:

Объем опухоли >25 мм2.

Содержание опухолевых клеток >20%.

От 300 опухолевых клеток.

От 1 нг ДНК.

Все тесты для рака легкого на основе секвенирования нового поколения (NGS) доступны для исследования на материале плазмы крови

ЧТО ТАКОЕ ЖИДКОСТНАЯ БИОПСИЯ?

Жидкостная биопсия представляет собой новейший метод диагностики на основе образца крови.

В основе метода лежит анализ следовых количеств ДНК опухолевых клеток, свободно циркулирующих в крови.

Жидкостная биопсия - это неинвазивная и экономичная альтернатива традиционным методам биопсии. Технология основана на поиске мутаций в циркулирующей опухолевой ДНК (цоДНК) и позволяет проводить мониторинг прогрессии заболевания после резекции опухоли или в ходе лекарственного лечения, оценивать эффективность противоопухолевой терапии, а также может быть полезна при выборе наиболее оптимального лечения.

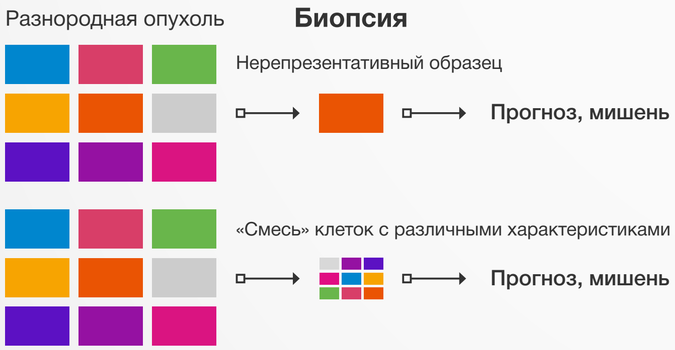
ОТКУДА БЕРЕТСЯ ЦИРКУЛИРУЮЩАЯ ДНК?

В процессе некроза и апоптоза как нормальных клеток организма, так и опухолевых клеток фрагменты ДНК высвобождаются из ядра и могут попадать в кровоток.

Такую свободно циркулирующую в крови ДНК можно детектировать, выделять и изучать!

Жидкостная биопсия

БИОПСИЯ, ИНВАЗИВНАЯ ДИАГНОСТИКА	ЖИДКОСТНАЯ БИОПСИЯ
Оперативное вмешательство требует четкой клинической предпосылки	Мониторинг эффективности таргетной терапии
Возможность проведения исследования зависит от состояния пациента и доступности опухоли	Диагностика мутации, ассоциированных с резистентностью к таргетной терапии
Не подходит для периодического мониторинга прогрессирования и рецидива заболевания	Диагностика в реальном времени
Высокая стоимость инвазивного вмешательства	Оценка ответа на лечение
Риск послеоперационных осложнений	Не инвазивно, материал для исследования венозная кровь
Исследование мутационного статуса на материале опухоли актуально только до лечения	Позволяет оценить гетерогенность опухоли
	Быстрее, чем классическое генетическое исследование опухоли, полученной при биопсии/хирургическом вмешательстве
	Для анализа мутаций связанных с таргетной терапией, когда нет возможности получить образец опухоли или он недостаточного качества



Тесты для жидкостной биопсии при раке легкого

Жидкостная биопсия. Определение мутаций в гене *EGFR*

Жидкостная биопсия. Определение мутаций в гене *BRAF*

Жидкостная биопсия. Определение мутаций в гене гене *KRAS*

Жидкостная биопсия для рака легкого, базовая панель:
EGFR, BRAF, KRAS, NRAS

Жидкостная биопсия для рака легкого, расширенная панель:
ALK, BRAF, EGFR, ERBB2, KRAS, MET, PIK3CA и другие гены.
Всего 57 генов

МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ:

секвенирование ДНК нового поколения (Next Generation Sequencing, NGS).

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ:

детекция мутантного аллеля при его содержании в образце ≥0.1%.

Мониторинг молекулярной резистентности у пациентов с НМРЛ при помощи жидкостной биопсии

Ген	Мутации, обуславливающие резистентность	Препарат
EGFR	T790M	ингибиторы тирозинкиназы EGFR
ALK	F1147L, 1151Tins, L1152R, C1156Y, L1196M, L1198F, G1202R, S1206Y, G1269A	ингибиторы тирозинкиназы ALK

Мониторинг изменения содержания мутантного аллеля в плазме крови позволяет оценить резистентность опухоли к таргетной терапии и своевременно скорректировать тактику лечения.

Мутация T790M EGFR

Лечение с применением ИТК *EGFR* 1-го и 2-го поколений (гефитиниб, эрлотиниб, афатиниб) пациентов с НМРЛ и выявленной мутацией в гене *EGFR* часто приводит к резистентности к ИТК EGFR через 8-12 месяцев

До 60% случаев резистентности обусловлено появлением новой мутации T790M в гене *EGFR*

Исследование рекомендуется при появлении первых признаков прогрессирования НМРЛ у пациентов, получавших лечение ИТК EGFR

Обнаружение мутации T790M в гене *EGFR* в плазме крови не требует подтверждения референсными методами

В случае обнаружения T790M в гене *EGFR* рекомендовано применение осимертиниба

Комплексное генетическое тестирование для рака легкого

(Два исследования в одном)

ИССЛЕДОВАНИЕ ТКАНИ ОПУХОЛИ НА МАТЕРИАЛЕ ПАРАФИНОВОГО БЛОКА + ЖИДКОСТНАЯ БИОПСИЯ

Базовая панель:

Анализ мутаций в генах *EGFR, BRAF, KRAS, NRAS*

Материал исследования:

парафиновый блок + плазма

Расширенная панель:

Анализ мутаций в 57 генах

Материал исследования:

парафиновый блок + плазма

Показано пациентам, у которых парафиновые блоки были получены несколько лет назад

Позволяет подтвердить наличие мутации, когда результат исследования FFPE блока сомнительный

Позволяет выявить наличие мутаций в других частях опухоли или в метастазах

Позволяет проводить дальнейший мониторинг эффективности терапии, в том числе используя данные о частоте мутантного аллеля

Тесты на основе NGS (секвенирования нового поколения) для рака легкого

ЭТАПЫ ИССЛЕДОВАНИЯ:

1 Оценка качества биоматериала и преаналитические процедуры

В случае недостаточного качества образца вследствие низкого содержания опухолевых клеток или ДНК, или высокой деградации ДНК исследование не выполняется. Стоимость возвращается заказчику, за исключением стоимости оценки качества образца.

2 Исследование материала на наличие мутаций

3 Обработка полученных данных в том числе с использованием баз данных

4 Выдача заключения

Цены на исследования и срок исполнения

НАИМЕНОВАНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	ЦЕНА (РУБ.)	СРОК ИСПОЛНЕНИЯ (РАБОЧИЕ ДНИ)
Рак легких, базовая панель (EGFR, KRAS, NRAS, BRAF)	8 000	14
Рак легких, жидкостная биопсия, базовая панель (EGFR, KRAS, NRAS, BRAF)	15 500	14
Определение мутаций в гене EGFR	7 500	14
Определение мутаций в гене EGFR в плазме крови (жидкостная биопсия)	15 500	14
Определение транслокаций гена ALK	15 000	14
Определение транслокаций гена ROS1	15 000	14
Рак легких, расширенная панель	24 000	21
Жидкостная биопсия для рака легкого, расширенная панель	35 000	21

Система управления качеством лаборатории “Геномед”

1. В лаборатории Геномед работает 21 человек с биологическим или медико-биологическим образованием, включая 2 кандидатов наук.

2. Каждый из сотрудников имеет многолетний опыт научной работы в ведущих лабораториях России и мира, сотрудники лаборатории публикуются в научных изданиях, выступают на международных конференциях и постоянно повышают свою квалификацию.

3. Работа лаборатории организована в соответствии со стандартами ISO-15189 и стандартами GLP.

4. После каждого этапа работы с биологическим материалом или нуклеиновой кислотой проводится дополнительный этап контроля качества для оценки соответствия полученного результата внутрилабораторным требованиям или требованиям, заявленным компаниями-производителями используемых в лаборатории наборов.

5. Применяемые в лаборатории мероприятия по управлению качеством позволяют гарантировать получение достоверного результата исследования и практически исключить вероятность получения ложного результата.

Ссылки

https://www.mayomedicallaboratories.com/test-catalog/Clinical+and+Interpretive/65142

https://www.qiagen.com/ca/shop/genes-and-pathways/complete-biology-list/lung-cancer/

http://www.mlabs.umich.edu/molecular-diagnostics/moldx/lungcancer/

https://www.questdiagnostics.com/home/physicians/testing-services/by-test-name/lung-cancer-mutation.html

https://www.questdiagnostics.com/testcenter/testguide.action?dc=TS_LungCancerMutation_Panel

https://www.questdiagnostics.com/home/physicians/testing-services/by-test-name/lung-cancer-mutation.html

http://www.mplnet.com/tests/lung-cancer-ngs-panel

http://ngenebio.com/products/ngs-cancer-panel/lungaccutest/

https://www.medscape.com/viewarticle/897309

https://www.medscape.com/viewarticle/891924

https://www.onclive.com/conference-coverage/asco-2018/ngs-established-as-most-cost-effective-genetic-test-for-metastatic-nsclc

http://tools.thermofisher.com/content/sfs/brochures/AmpliSeq-Colon-Lung-Cancer-Panel-Flyer.pdf

https://www.spandidos-publications.com/or/38/6/3419?text=fulltext

http://ascopubs.org/doi/abs/10.1200/JCO.2018.36.15_suppl.e21065

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6153525/

https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1556086418306804

https://www.bgi.com/global/wp-content/uploads/sites/3/2017/04/BGI_ServiceOverview_SENTIS_Lung_Cancer_07-17.pdf

https://www.medscape.com/viewarticle/894215